

## pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针)

| 产品编号        | 产品名称                        | 包装    |
|-------------|-----------------------------|-------|
| D2867-1μg   | pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针) | 1μg   |
| D2867-100μg | pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针) | 100μg |

### 产品简介:

- pCMV-jGCaMP7系列质粒(jGCaMP7b/jGCaMP7c/jGCaMP7f/jGCaMP7s)是用于钙离子( $Ca^{2+}$ )荧光检测的哺乳动物细胞表达质粒,表达的是经过突变和优化并适用于细胞或组织中钙离子荧光检测的M13-GFP-CaM融合蛋白。M13-GFP-CaM融合蛋白这个钙离子探针(calcium probe)中,环状排列的绿色荧光蛋白(circularly permuted green fluorescent protein, cpGFP)一端和钙调蛋白(calmodulin, CaM)融合表达,另一端与可以和钙调蛋白CaM相互作用的肌球蛋白轻链激酶M13(也称RS20)肽链融合表达。这样当钙离子结合钙调蛋白时,可以改变钙调蛋白的构象,同时也会影响和钙调蛋白相互作用的M13的构象,钙调蛋白和M13的构象改变最终导致GFP的构象改变,从而影响其荧光的强弱,最终实现对于钙离子浓度变化的检测。



图1. GCaMP7系列蛋白结构图。其中pRSET A Tag中含有6X His tag。

- 碧云天构建的pCMV-jGCaMP7系列质粒(jGCaMP7b/jGCaMP7c/jGCaMP7f/jGCaMP7s)是最新一代基因编码的钙离子探针系列,适用于常见细胞的细胞内钙离子水平变化检测,并且特别适用于监测特定条件下神经元中的钙离子水平的变化。
- jGCaMP7系列的四个融合蛋白与GCaMP6系列相比,各有其突出特点:高亮度钙离子荧光探针jGCaMP7b (brighter baseline fluorescence)有更亮的本底荧光,并且灵敏度可达到GCaMP6s的3倍,未结合钙离子时的荧光强度比GCaMP6s增强50%;高对比度钙离子荧光探针jGCaMP7c (high contrast with low baseline fluorescence)有高对比度低和更低的背景荧光,并且灵敏度是GCaMP6s的2.7倍,对比度显著增强;快速响应型钙离子荧光探针jGCaMP7f (fast kinetics)具有快速动力学特点,反应速率是GCaMP6f的5倍和GCaMP6s的3倍,更加适合检测钙离子的动态变化;高灵敏度钙离子荧光探针jGCaMP7s (sensitive and slow)具有高灵敏度但响应速度相对较慢的特点,灵敏度可达GCaMP6s的5倍以上,并且响应速率也比GCaMP6s快。
- pCMV-jGCaMP7系列质粒是在针对其M13-GFP-CaM融合蛋白中肽链相互作用的界面区域进行突变筛选并优化而得到的。四个融合蛋白对应的突变氨基酸序列参考表1。

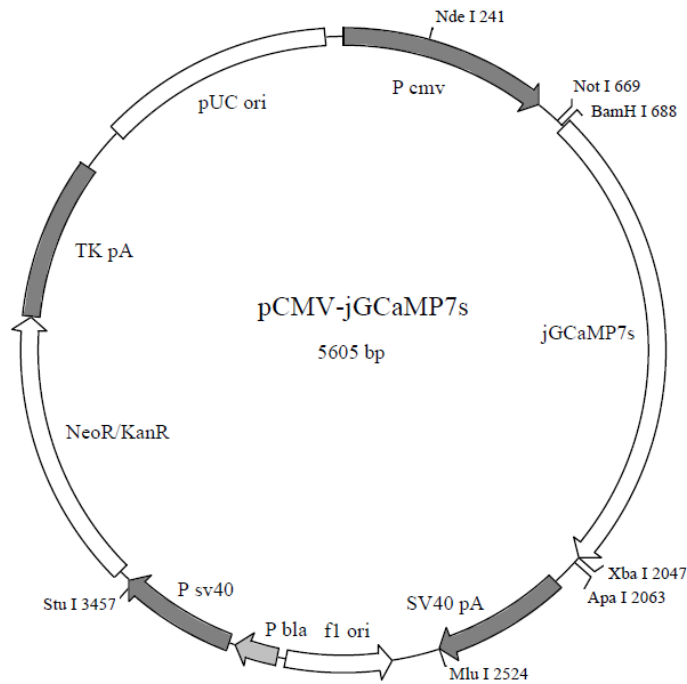
表1: jGCaMP7突变位点

|          | M13  | Linker1 | cpGFP | Linker2 | CaM   |       |       |       |       |
|----------|------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| jGCaMP7s | A52V |         |       |         | A317L |       |       |       |       |
| jGCaMP7f |      |         | H78K  |         | A317L |       | R381T | T383S | G392R |
| jGCaMP7b |      |         | H78K  | L302P   | A317L | M374Y |       |       |       |
| jGCaMP7c |      | L59Q    | E60P  | H78K    |       | M378G | K379S | T383S | T412N |

- jGCaMP7s中的突变主要发生在M13(A52V)和CaM(A317L)上。pCMV-jGCaMP7s质粒含有CMV启动子,可以高效启动目的蛋白在细胞中的表达,该质粒为卡那霉素抗性。
- pCMV-jGCaMP7s质粒的主要信息如下:

| Feature                                | Nucleotide | Position  |
|--|------------|-----------|
| CMV promoter                           |            | 1-602     |
| T3 promoter and T3 primer binding site |            | 620-639   |
| jGCaMP7s                               |            | 693-2045  |
| T7 promoter and T7 primer binding site |            | 2107-2128 |
| SV40 polyA signal                      |            | 2140-2523 |
| f1 origin of ss-DNA replication        |            | 2661-2965 |
| bla promoter                           |            | 2990-3114 |
| SV40 promoter                          |            | 3134-3427 |
| Neomycin/kanamycin resistance ORF      |            | 3507-4298 |
| HSV-thymidine kinase (TK) polyA signal |            | 4299-4757 |
| pUC origin                             |            | 4886-5553 |

- pCMV-jGCaMP7s质粒(5605bp)的图谱如下:



➤ pCMV-jGCaMP7s的多克隆位点的详细图谱如下：

|      | SacII       | NotI       | BamHI      | jGCaMP7s    |             |
|------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|
| 651  | GAGCTCCACC  | GCGGTGGCGG | CCGCTCTAGC | CCGGGCGGAT  | CCATGGGTTC  |
|      | CTCGAGGTGG  | CGCCACCGCC | GGCGAGATCG | GGCCCGCTA   | GGTACCCAAG  |
| 701  | TCATCATCAT  | CATCATCATG | GTATGGCTAG | CATGACTGGT  | GGACAGCAAA  |
|      | CAAGTTCCAC  | GCGTACCTCC | CGAGGCACTT | GCCGGTGATG  | AAGCTCTAGC  |
| 751  | TGGGTCGGGA  | TCTGTACGAC | GATGACGATA | AGGATCTCGC  | CACCATGGTC  |
|      | ACCCAGCCCT  | AGACATGCTG | CTACTGCTAT | TCCTAGAGCG  | GTGGTACCAG  |
| 801  | GACTCATCAC  | GTCGTAAGTG | GAATAAGACA | GGTCACGCAG  | TCAGAGTGAT  |
|      | CTGAGTAGTG  | CAGCATTCAC | CTTATTCTGT | CCAGTGCCTC  | AGTCTCACTA  |
| 851  | AGGTCCGGCTG | AGCTCACTCG | AGAACGTCTA | TATCAAGGCC  | GACAAGCAGA  |
|      | TCCAGCCGAC  | TCGAGTGAGC | TCTTGCAGAT | ATAGTTCCGG  | CTGTTTCGTCT |
| 901  | AGAACGGCAT  | CAAGGCGAAC | TTCCACATCC | GCCACAACAT  | CGAGGACGGC  |
|      | TCTTGCCGTA  | GTTCCGCTTG | AAGGTGTAGG | CGGTGTTGTA  | GTCCTTGCCG  |
| 951  | GGCGTGCAGC  | TCGCTACCA  | CTACCAGCAG | AACACCCCA   | TCGGCGACGG  |
|      | CCGCACGTGC  | AGCGGATGGT | GATGGTCGTC | TTGTGGGGGT  | AGCCGCTGCC  |
| 1001 | CCCCGTGCTG  | CTGCCCGACA | ACCACACTCT | GAGCGTGCAG  | TCCAAACTTT  |
|      | GGGGCAGCAG  | GACGGGCTGT | TGGTGATGGA | CTCGCACGTC  | AGGTTTGAAA  |
| 1051 | CGAAAGACCC  | CAACGAGAAG | CGCGATCACA | TGGTCCTGCT  | GGAGTTCGTG  |
|      | GCTTTCCTGG  | GTTGCTCTTC | GCGCTAGTGT | ACCAGGACGA  | CCTCAAGCAC  |
| 1101 | ACCGCCGCCG  | GGATCACTCT | CGGCATGGAC | GAGCTGTACA  | AGGGCGGTAC  |
|      | TGGCGGCGGC  | CCTAGTGAGA | GCCGTACCTG | CTCGACATGT  | TCCCGCCATG  |
| 1151 | CGGAGGGAGC  | ATGGTGAGCA | AGGGCGAGGA | GCTGTTTACC  | GGGGTGGTGC  |
|      | GCCTCCCTCG  | TACCACTCGT | TCCCCTCCT  | CGACAAGTGG  | CCCCACCACG  |
| 1201 | CCATCCTGGT  | CGAGCTGGAC | GGCGACGTAA | ACGGCCACAA  | GTTTCAGCGTG |
|      | GGTAGGACCA  | GCTCGACCTG | CCGCTGCATT | TGCCGGTGT   | CAAGTCGCAC  |
| 1251 | TCCGGCGAGG  | GTGAGGGCGA | TGCCACCTAC | GGCAAGCTGA  | CCCTGAAGTT  |
|      | AGGCCGCTCC  | CACTCCCCTG | ACGGTGGATG | CCGTTTCGACT | GGGACTTCAA  |
| 1301 | CATCTGCACC  | ACCGGCAAGC | TGCCCGTGCC | CTGGCCCACC  | CTCGTGACCA  |
|      | GTAGACGTGG  | TGGCCGTTTC | ACGGGCACGG | GACCGGGTGG  | GAGCACTGGT  |

1351 CCCTGACCTA CGGCGTGCAG TGCTTCAGCC GCTACCCCGA CCACATGAAG  
ACGTCCTTAA GCTATAGCAG CTGTCTAGAG AGCTCAGATC TTGATCACCC

1401 CAGCACGACT TCTTCAAGTC CGCCATGCCC GAAGGCTACA TCCAGGAGCG  
GTCGTGCTGA AGAAGTTCAG GCGGTACGGG CTTCCGATGT AGGTCCTCGC

1451 CACCATCTTC TTCAAGGACG ACGGCAACTA CAAGACCCGC GCCGAGGTGA  
GTGGTAGAAG AAGTTCCTGC TGCCGTTGAT GTTCTGGGCG CGGCTCCACT

1501 AGTTCGAGGG CGACACCCTG GTGAACCGCA TCGAGCTTAA GGGCATCGAC  
TCAAGCTCCC GCTGTGGGAC CACTTGGCGT AGCTCGAATT CCCGTAGCTG

1551 TTCAAGGAGG ACGGCAACAT CCTGGGGCAC AAGCTGGAGT ACAACCTTCC  
AAGTTCCTCC TGCCGTTGTA GGACCCCGTG TTCGACCTCA TGTTGGAAGG

1601 TGACCAACTG ACTGAAGAGC AGATCGCAGA ATTTAAAGAG CTTTTCTCCC  
ACTGGTTGAC TGACTTCTCG TCTAGCGTCT TAAATTTCTC GAAAAGAGGG

1651 TATTTGACAA GGACGGGGAT GGGACAATAA CAACCAAGGA GCTGGGGACG  
ATAAAGTGT CCTGCCCTA CCCTGTTATT GTTGGTTCTT CGACCCCTGC

1701 GTGATGCGGT CTCTGGGGCA GAACCCACA GAAGCAGAGC TGCAGGACAT  
CACTACGCCA GAGACCCCGT CTTGGGGTGT CTTCGTCTCG ACGTCCTGTA

1751 GATCAATGAA GTAGATGCCG ACGGTGACGG CACAATCGAC TTCCCTGAGT  
CTAGTTACTT CATCTACGGC TGCCACTGCC GTGTTAGCTG AAGGGACTCA

1801 TCCTGACAAT GATGGCAAGA AAAATGAAAT ACAGGGACAC GGAAGAAGAA  
AGGACTGTTA CTACCGTTCT TTTTACTTTA TGTCCTGTG CTTTCTTCTT

1851 ATTAGAGAAG CGTTCGGTGT GTTTGATAAG GATGGCAATG GCTACATCAG  
TAATCTCTTC GCAAGCCACA CAACTATTCT CTACCGTTAC CGATGTAGTC

1901 TGCAGCAGAG CTTGCCACG TGATGACAAA CCTTGGAGAG AAGTTAACAG  
ACGTCGTCTC GAAGCGGTGC ACTACTGTTT GGAACCTCTC TTCAATTGTC

1951 ATGAAGAGGT TGATGAAATG ATCAGGGAAG CAGACATCGA TGGGGATGGT  
TACTTCTCCA ACTACTTTAC TAGTCCCTTC GTCTGTAGCT ACCCCTACCA

XbaI

2001 CAGGTAAACT ACGAAGAGTT TGTACAAATG ATGACAGCGA AGTGATCTAG  
GTCCATTTGA TGCTTCTCAA ACATGTTTAC TACTGTGCTC TCACTAGATC

SpeI A p a I

2051 AACTAGTGGG CCCGGTACCT TAATTAATTA AGGTACCAGG TAAGTGTACC  
TTGATCACCC GGGCCATGGA ATTAATTAAT TCCATGGTCC ATTCACATGG

➤ pCMV-jGCaMP7s中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut pCMV-jGCaMP7b)包括:

|         |         |        |       |       |       |        |
|---------|---------|--------|-------|-------|-------|--------|
| AclI    | AfeI    | AgeI   | AhdI  | AscI  | AsiSI | BaeI   |
| BbsI    | BbvCI   | BglIII | BsiWI | BsmBI | BspEI | BssHII |
| BstEII  | BstZ17I | EcoNI  | EcoRI | EcoRV | Esp3I | FseI   |
| HindIII | NruI    | PflMI  | PmeI  | PpuMI | PshAI | PspXI  |
| SbfI    | ScaI    | SgrAI  | SwaI  | XcmI  | XmnI  |        |

➤ pCMV-jGCaMP7s中的单酶切位点 (Restriction enzymes that cut pCMV-jGCaMP7b once) 包括:

|        |                                       |      |        |                  |      |
|--------|---------------------------------------|------|--------|------------------|------|
| AccI   | GT`MK, AC                             | 799  | PflFI  | GACN`N, NGTC     | 3735 |
| AflIII | C`TTAA, G                             | 1536 | PluTI  | G, GCGC`C        | 3638 |
| ApaI   | G, GGCC`C                             | 2062 | PmlI   | CAC GTG          | 1919 |
| ApaLI  | G`TGCA, C                             | 5239 | PspOMI | G`GGCC, C        | 2058 |
| BamHI  | G`GATC, C                             | 687  | PstI   | C, TGCA`G        | 1744 |
| BcgI   | NN` (N) 10CGA (N) 6TGC (N) 10, NN     | 735  | PvuI   | CG, AT`CG        | 2140 |
| BlpI   | GC`TNAGC                              | 858  | RsrII  | CG`GWC, CG       | 4151 |
| BmgBI  | CAC GTC                               | 810  | SacII  | CC, GC`GG        | 662  |
| Bpu10I | CC`TNA, GC                            | 1029 | SalI   | G`TCGA, C        | 798  |
| BsaXI  | , NNN` (N) 9AC (N) 5CTCC (N) 7, NNN`  | 2687 | SapI   | GCTCTTCN`NNN,    | 1609 |
| BspQI  | GCTCTTCN`NNN,                         | 1609 | SfiI   | GGCCN, NNN`NGGCC | 3410 |
| CspCI  | , NN` (N) 11CAA (N) 5GTGG (N) 10, NN` | 382  | SfoI   | GGC GCC          | 3636 |
| DraIII | CAC, NNN`GTG                          | 2753 | SmaI   | CCC GGG          | 682  |

|        |            |      |         |             |      |
|--------|------------|------|---------|-------------|------|
| KasI   | G`GCGC,C   | 3634 | SnaBI   | TAC GTA     | 342  |
| MfeI   | C`AATT,G   | 2837 | SpeI    | A`CTAG,T    | 2052 |
| MluI   | A`CGCG,T   | 2523 | SrfI    | GCCC GGGC   | 682  |
| MscI   | TGG CCA    | 3717 | StuI    | AGG CCT     | 3456 |
| NarI   | GG`CG,CC   | 3635 | TspMI   | C`CCGG,G    | 680  |
| NdeI   | CA`TA,TG   | 240  | Tth111I | GACN`N,NGTC | 3753 |
| NotI   | GC`GGCC,GC | 668  | XbaI    | T`CTAG,A    | 2046 |
| PaeR7I | CTCGAG     | 867  | XhoI    | C`TCGA,G    | 867  |
| PciI   | A`CATG,T   | 5553 | XmaI    | C`CCGG,G    | 680  |

- pCMV-jGCaMP7s的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。
- pCMV-jGCaMP7s质粒转染Hela细胞12h后，于培养基中加入Ionomycin (2μM)后150秒内的荧光变化效果请参考图2本产品网站上的视频。

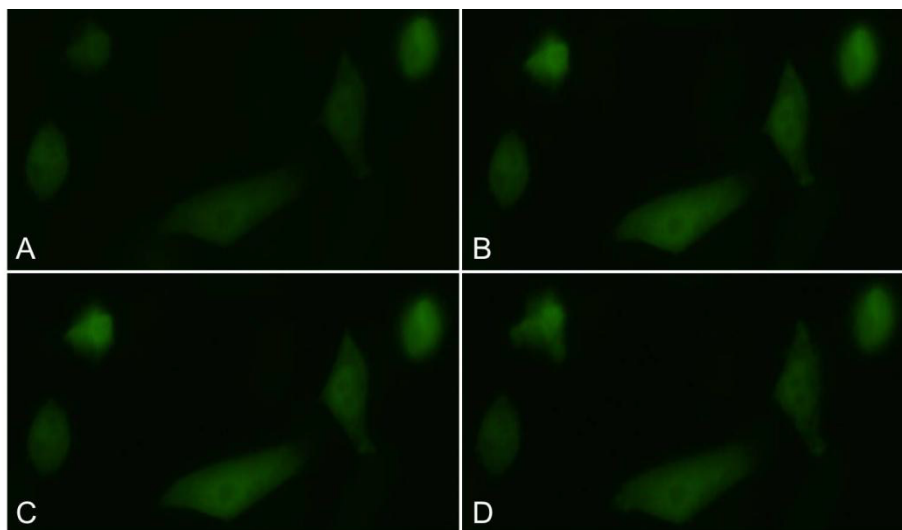


图2. pCMV-jGCaMP7s质粒转染Hela细胞12h后2μM Ionomycin处理前后的荧光变化效果图。pCMV-jGCaMP7s质粒转染培养在六孔板中的Hela细胞12h后，先用PBS洗涤细胞2-3次，加入1ml DMEM，选择适当视野，在荧光显微镜下拍摄视频。开始拍摄5-10秒后，加入1ml含有4μM Ionomycin的新鲜DMEM培养液(最终浓度为2μM Ionomycin)，继续拍摄视频约2-3分钟。图中可见加入Ionomycin之前很细胞的荧光比较弱，加入Ionomycin后细胞的荧光逐渐变强，时间较长后荧光又会逐渐变弱。A. 未加Ionomycin; B. 加入Ionomycin 30s; C: 加入Ionomycin 60s; D: 加入Ionomycin 120s。

#### 包装清单：

| 产品编号        | 产品名称                       | 包装    |
|-------------|----------------------------|-------|
| D2867-1μg   | pCMV-jGCaMP7f (高亮度钙离子荧光探针) | 1μg   |
| D2867-100μg | pCMV-jGCaMP7f (高亮度钙离子荧光探针) | 100μg |
| —           | 说明书                        | 1份    |

#### 保存条件：

-20°C保存。

#### 注意事项：

- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

- 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转化大肠杆菌，进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定，或通过测序进行鉴定。
- 100μg包装的本产品质粒浓度为0.1μg/μl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。

#### 相关产品：

| 产品编号        | 产品名称                | 包装    |
|-------------|---------------------|-------|
| D2602-1μg   | pCMV-Blank          | 1μg   |
| D2602-100μg | pCMV-Blank          | 100μg |
| D2621-1μg   | pCMV-C-BFP (蓝色荧光蛋白) | 1μg   |
| D2621-100μg | pCMV-C-BFP (蓝色荧光蛋白) | 100μg |

|             |                              |       |
|-------------|------------------------------|-------|
| D2623-1μg   | pCMV-C-CFP (青色荧光蛋白)          | 1μg   |
| D2623-100μg | pCMV-C-CFP (青色荧光蛋白)          | 100μg |
| D2624-1μg   | pCMV-C-DsRed (红色荧光蛋白)        | 1μg   |
| D2624-100μg | pCMV-C-DsRed (红色荧光蛋白)        | 100μg |
| D2626-1μg   | pCMV-C-EGFP (绿色荧光蛋白)         | 1μg   |
| D2626-100μg | pCMV-C-EGFP (绿色荧光蛋白)         | 100μg |
| D2628-1μg   | pCMV-C-mCherry (红色荧光蛋白)      | 1μg   |
| D2628-100μg | pCMV-C-mCherry (红色荧光蛋白)      | 100μg |
| D2630-1μg   | pCMV-C-YFP (黄色荧光蛋白)          | 1μg   |
| D2630-100μg | pCMV-C-YFP (黄色荧光蛋白)          | 100μg |
| D2632-1μg   | pCMV-C-Flag                  | 1μg   |
| D2632-100μg | pCMV-C-Flag                  | 100μg |
| D2639-1μg   | pCMV-C-HA                    | 1μg   |
| D2639-100μg | pCMV-C-HA                    | 100μg |
| D2650-1μg   | pCMV-C-His                   | 1μg   |
| D2650-100μg | pCMV-C-His                   | 100μg |
| D2672-1μg   | pCMV-C-Myc                   | 1μg   |
| D2672-100μg | pCMV-C-Myc                   | 100μg |
| D2701-1μg   | pCMV-N-BFP (蓝色荧光蛋白)          | 1μg   |
| D2701-100μg | pCMV-N-BFP (蓝色荧光蛋白)          | 100μg |
| D2703-1μg   | pCMV-N-CFP (青色荧光蛋白)          | 1μg   |
| D2703-100μg | pCMV-N-CFP (青色荧光蛋白)          | 100μg |
| D2705-1μg   | pCMV-N-DsRed (红色荧光蛋白)        | 1μg   |
| D2705-100μg | pCMV-N-DsRed (红色荧光蛋白)        | 100μg |
| D2707-1μg   | pCMV-N-EGFP (绿色荧光蛋白)         | 1μg   |
| D2707-100μg | pCMV-N-EGFP (绿色荧光蛋白)         | 100μg |
| D2711-1μg   | pCMV-N-mCherry (红色荧光蛋白)      | 1μg   |
| D2711-100μg | pCMV-N-mCherry (红色荧光蛋白)      | 100μg |
| D2716-1μg   | pCMV-N-YFP (黄色荧光蛋白)          | 1μg   |
| D2716-100μg | pCMV-N-YFP (黄色荧光蛋白)          | 100μg |
| D2722-1μg   | pCMV-N-Flag                  | 1μg   |
| D2722-100μg | pCMV-N-Flag                  | 100μg |
| D2733-1μg   | pCMV-N-HA                    | 1μg   |
| D2733-100μg | pCMV-N-HA                    | 100μg |
| D2737-1μg   | pCMV-N-His                   | 1μg   |
| D2737-100μg | pCMV-N-His                   | 100μg |
| D2756-1μg   | pCMV-N-Myc                   | 1μg   |
| D2756-100μg | pCMV-N-Myc                   | 100μg |
| D2861-1μg   | pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)   | 1μg   |
| D2861-100μg | pCMV-jGCaMP7b (高亮度钙离子荧光探针)   | 100μg |
| D2863-1μg   | pCMV-jGCaMP7c (高对比度钙离子荧光探针)  | 1μg   |
| D2863-100μg | pCMV-jGCaMP7c (高对比度钙离子荧光探针)  | 100μg |
| D2865-1μg   | pCMV-jGCaMP7f (快速响应型钙离子荧光探针) | 1μg   |
| D2865-100μg | pCMV-jGCaMP7f (快速响应型钙离子荧光探针) | 100μg |
| D2867-1μg   | pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针)  | 1μg   |
| D2867-100μg | pCMV-jGCaMP7s (高灵敏度钙离子荧光探针)  | 100μg |

Version 2020.04.20